

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit yang ganas dan dapat menyerang siapa saja terutama yang banyak terpapar oleh radikal bebas (Raflizar dan Nainggolan, 2010). Kanker muncul akibat perkembangan yang tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh manusia. Tjay dan Raharja (2007) menyebutkan bahwa tidak teraturnya fungsi hormon dapat menyebabkan penyakit kanker. Hal tersebut dapat membentuk jaringan baru sebagai tumor dan biasanya tumbuh menjadi jaringan ganas.

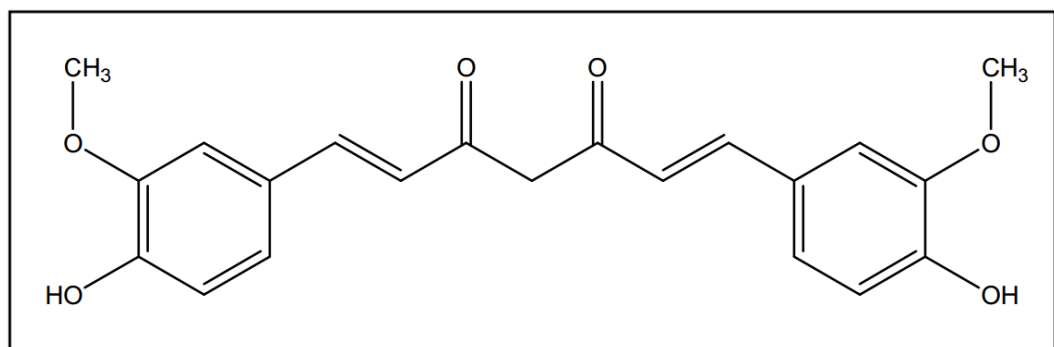
Prevalensi penyakit kanker di Indonesia menempati urutan ketiga dari prevalensi penyakit tidak menular setelah asma dan PPOK. Angka prevalensi dari asma, PPOK, dan kanker sendiri berturut-turut 4,5 %, 3,7 %, dan 1,4 % per mil. Kemudian untuk Provinsi yang memiliki prevalensi kanker tertinggi terdapat di D.I. Yogyakarta (4,1%), diikuti Jawa Tengah (2,1%), dan Bali (2%) (Trihono, 2013).

Banyak hal yang dapat menyebabkan kanker muncul dan berkembang di tubuh manusia. Beberapa diantaranya adalah faktor genetik dari keluarga, lama berolahraga kurang dari 4 jam/minggu, dan tingginya frekuensi konsumsi lemak. Selain itu faktor lain yang dapat menyebabkan penyakit kanker adalah paparan sinar UV yang berlebihan dan paparan sinar radiasi pengobatan

(Raflizar dan Nainggolan, 2010). Cooper (2001) menyebutkan selain gaya hidup manusia yang kurang sehat, hal lain seperti infeksi virus, pemberian hormon tertentu yang berlebihan, dan rangsangan fisik yang menyebabkan luka dan tak cepat sembuh merupakan faktor lain yang dapat menyebabkan kanker.

2. Kurkumin

Kurkumin merupakan senyawa aktif yang biasa diekstraksi dari kunyit (*Curcuma longa L.*). Senyawa ini sudah banyak diteliti dan diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Chattopadhyay *et al*, 2004). Senyawa kurkumin ini memiliki warna kuning dan berbentuk kristal. Selain itu kurkumin yang memiliki rumus molekul $C_{21}H_{20}O_6$ ini tidak larut dalam air (Salim *et al*, 2014). Pabon pada tahun 1964 telah berhasil mengembangkan sintesis senyawa kurkumin yang memiliki nama lain 1,7-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,6-heptadiena-3,5-dion. Struktur kurkumin dapat dilihat di gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kurkumin

Penelitian-penelitian terbaru tentang fungsi dari kurkumin sendiri sudah banyak dilakukan oleh peneliti. Selain anti kanker masih banyak efek dari kurkumin terhadap penyembuhan beberapa penyakit. Beberapa penelitian tentang kurkumin telah melaporkan bahwa kurkumin bisa dijadikan sebagai

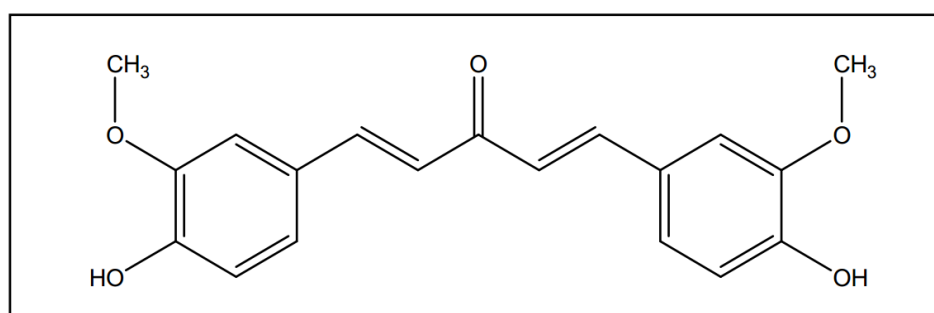
antioksidan (Rao, 1997; Majeed *et al.*, 1995), antiinflamasi (Van der Goot, 1997), antikolesterol (Bourne *et al.*, 1999), antiinfeksi (Sajithlal *et al.*, 1998), dan anti HIV (Mazumder *et al.*, 1997; Barthelemy *et al.*, 1998).

Kurkumin jika dilihat dari efektifitasnya melawan antikanker dilihat mekanisme dari kurkumin sendiri dapat menjadi senyawa antioksidan di tubuh. Senyawa ini berfungsi sebagai anti radikal bebas atau penangkal dari zat-zat karsinogenik dalam tubuh (Tonnesen dan Greenhill, 1992). Hal ini yang menguntungkan karena dapat mengurangi kejadian penyakit kanker di dalam tubuh.

Selanjutnya kurkumin juga mampu menghambat dari perkembangbiakan sel atau antiproliferasi. Pada mamalia perkembangbiakan sel diatur oleh serangkaian protein yang dikenal dengan nama onkogen (pada keadaan normal disebut protoonkogen) dan suatu *Tumor Suppressor Gen* (TS) yang merupakan gen penghambat pertumbuhan sel (Meiyanto, 1999). Dalam tubuh mamalia kedua gen tersebut bekerja secara berkesinambungan. Onkogen yang bertugas untuk perkembangbiakan sel dan TS yang berfungsi menghentikan perkembangbiakannya. Hal ini sangat berbahaya ketika kedua gen ini terjadi mutasi. Ketika terjadi mutasi akan menyebabkan sel berkembangbiak secara abnormal dan dapat menjadi kanker. Kurkumin dilaporkan dapat mampu menghambat kerja protein kinase C (PKC). Protein ini berfungsi untuk tahap awal pembelahan sel (Meiyanto, 1999). Penghambatan protein berarti menghentikan proses perkembangan sel. Hal ini bermanfaat untuk sel kanker yang terus mengalami pembelahan.

3. Gamavuton-0

Gamavuton-0 (GVT-0) merupakan senyawa turunan dari kurkumin. Senyawa ini hanya memiliki satu gugus karbonil dibandingkan kurkumin yang memiliki dua gugus karbonil. Senyawa ini memiliki nama lain 1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on dan dapat dilihat strukturnya pada gambar 2.

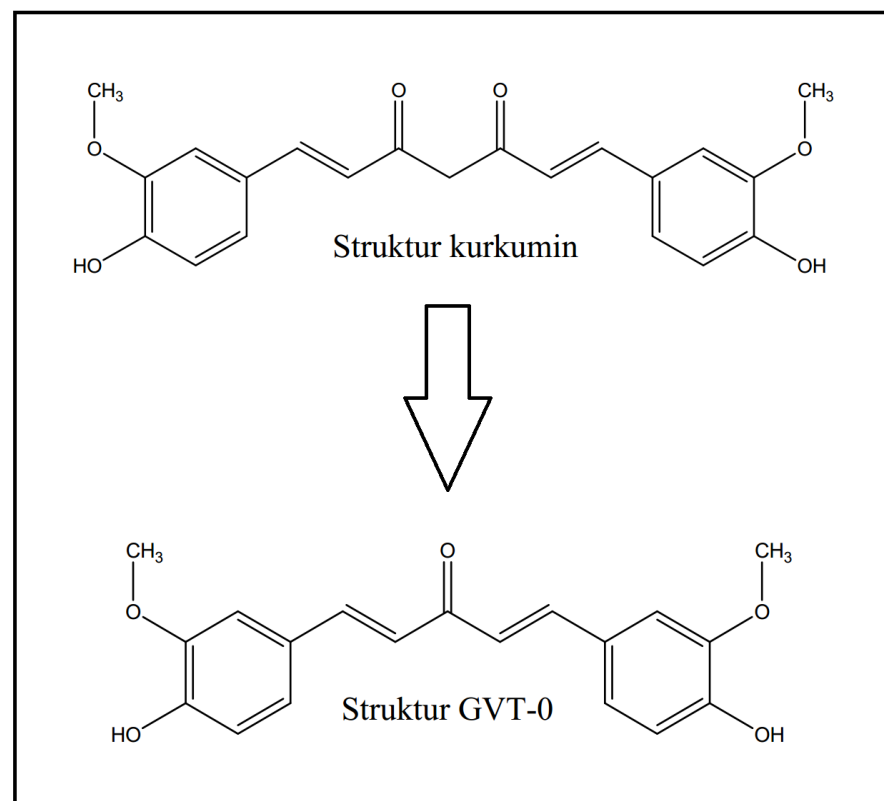


Gambar 2. Struktur GVT-0

Senyawa GVT-0 akan lebih stabil pada pH 6,5 jika dibandingkan dengan analognya yaitu kurkumin yang cepat terdegradasi pada pH 6 sekitar 16% dan pada pH 6,5 sekitar 23% dalam waktu 2 jam pada suhu 37 °C (Wang, 1996). Pengaruh pH menyebabkan bioavailabilitas sistemik kurkumin rendah baik jika digunakan secara oral maupun transdermal. Walaupun senyawa GVT-0 tetap lebih stabil pada pH tidak juga menurunkan sifatnya sebagai antioksidan yang baik (Sardjiman *et al.*, 1997). Menurut Nugroho (2004) GVT-0 memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Selain itu juga senyawa turunan kurkumin ini mempunyai efek sebagai antitumor (Youssef dan El-Sherbeny, 2005). Berdasarkan penelitian Nugroho (2009) GVT-0 atau Gamavuton-0 yang merupakan salah satu analog bezilidin aseton dari kurkumin dapat menunjukkan

aktivitas sitotoksitas dan antiploroferatif pada sel leukemia basofilik tikus (RBL-2H3).

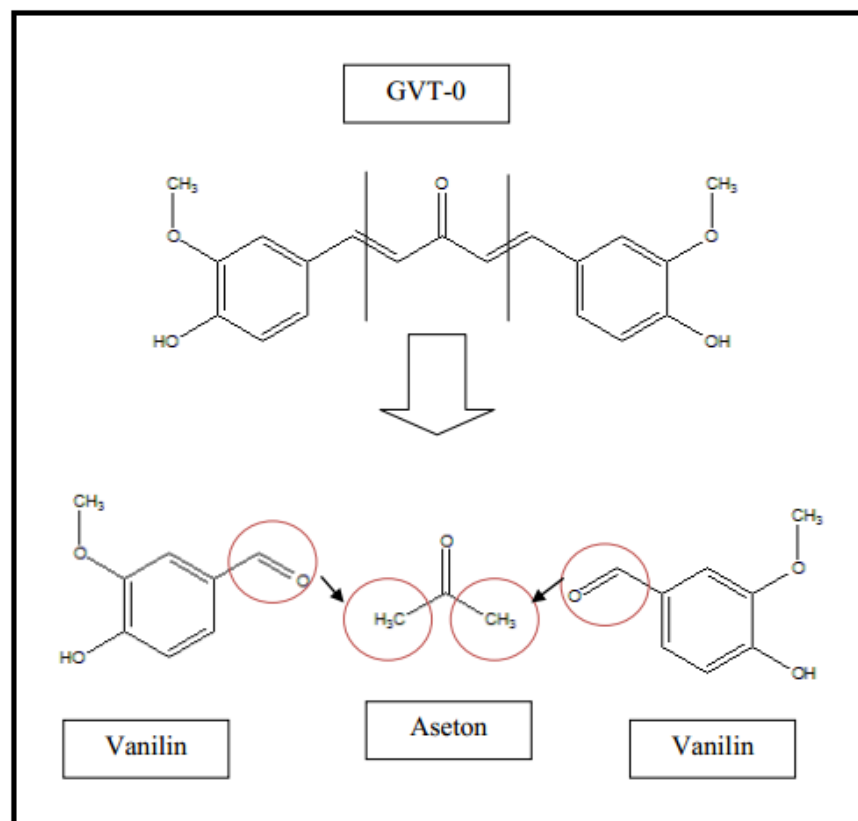
Analog kurkumin merupakan senyawa α,β -unsaturated karbonil. Senyawa GVT-0 dapat dihasilkan melalui suatu beta hidroksi karbonil yang mengalami dehidrasi. Senyawa tersebut melalui reaksi kondensasi Claissen-Schmidt dapat dibuat dengan senyawa aldehid dan senyawa yang memiliki gugus karbonil menggunakan katalis asam (Hadi, 2015). Struktur GVT-0 yang dimodifikasi dari struktur kurkumin dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Modifikasi Kurkumin menjadi GVT-0

Gamavuton-0 yang merupakan turunan kurkumin sama dengan inovatornya memiliki struktur diena simetris pada bagian tengah yang menghubungkan kedua aromatis yang ada di kanan dan kiri. Jika melihat

struktur dari GVT-0 dapat disintesis dari 3 senyawa yaitu dua senyawa aromatis yang sejenis yaitu vanilin dan satu molekul karbonil serupa yaitu aseton (Gambar 4). Reaksi yang terjadi merupakan reaksi kondensasi Claisen-Schmidt yang terjadi dalam suasana asam. Selain dalam suasana asam bisa juga reaksi ini dalam suasana basa. Namun penggunaan suasana asam lebih disukai karena rendemen yang dihasilkan cukup memuaskan dibanding katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1999).



Gambar 4. *Starting material* penyusun GVT-0

Tanda lingkaran pada gambar 4 adalah tempat terjadinya reaksi pembentukan GVT-0. Struktur vanilin dan aseton sama-sama memiliki ikatan karbonil. Atom O yang terdapat pada ikatan karbonil bersifat parsial negatif.

Pemberian suasana asam menjadikan aseton berubah menjadi nukleofilik. Aseton akan menyerang atom C karbonil yang terdapat pada vanilin karena aseton sudah terprotonasi. Hal ini akan terjadi dalam rangkaian reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Sardjiman, 2000).

4. Kromatotron

Kromatotron merupakan salah satu jenis alat kromatografi. Kromatografi sentrifugal menggunakan alat yang bernama kromatotron. Teknik pemisahan dari kromatotron sendiri menggunakan gaya sentrifugal dan gravitasi. Pada teknik ini juga digunakan silika gel untuk KLT yang dapat berfluorosensi di sinar tertentu. Prinsip pemisahan dari kromatotron sendiri sama dengan jenis kromatografi lain. Hanya saja pada kromatotron dapat lebih cepat untuk melakukan pemisahan senyawa dengan adanya gaya sentrifugal dan gaya gravitasi (Atun, 2014).

Kromatografi merupakan teknik pemisahan yang menggunakan fase gerak (*mobile phase*) dan fase diam (*stationary phase*) yang merupakan komponen penting dalam kromatografi. Teknik kromatografi telah berkembang dan telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan mengkuantifikasi berbagai macam komponen yang kompleks. Komponen tersebut dapat berasal dari yang organik maupun non organik (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Kromatotron sama seperti kromatografi lainnya dengan adanya fase gerak dan fase diam. Hanya saja pada kromatotron terdapat gaya sentrifugal yang memutar dari plat silika gel fase diam. Kromatografi jenis ini menggunakan rotor yang dimiringkan dan terdapat pada ruang tertutup oleh plat kaca. Lapisan

penyerapnya berupa piringan kaca yang dilapisi dengan silika gel sebagai fase diam. Plat tersebut disambungkan ke aliran listrik dan berputar dengan kecepatan 720 rpm. Pelarut pengelusi dimasukkan ke bagian tengah alat sehingga dapat mengalir dan merambat mengikuti putaran gaya sentrifugal. Untuk mengamati jalannya proses elusi dapat dimonitor dengan lampu UV. Pemasukan sample diikuti dengan pengelusan dan akan menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran. Pada tepi plat, pita-pita akan berputar keluar dengan mengikuti gaya sentrifugal dan ditampung dalam tempat yang sesuai (Hostettmann *et al.*, 1995).

5. Analisis Gamavuton-0

a. KLT

Berdasarkan alat yang digunakannya kromatografi dapat dibagi menjadi beberapa jenis. Diantaranya adalah kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), dan kromatografi gas (GC). Beragam jenis kromatografi di atas tetap memiliki prinsip kerja yang sama, yaitu dengan menggunakan fase gerak dan fase diam sebagai komponen yang paling penting. Penentuan suatu jenis kromatografi yang akan digunakan didasarkan kepada sifat-sifat dari senyawa yang akan diuji (Ganjar dan Abdul Rohman, 2007).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu jenis kromatografi planar. KLT merupakan salah satu metode kromatografi yang paling sering digunakan. Hal ini dikarenakan peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan metode analisis ini cukup sederhana. Hanya membutuhkan

lempeng KLT, bejana tertutup (*Chamber*), dan pelarut yang diletakkan di dalam bejana sudah dapat melaksanakan metode analisis ini. Dengan menggunakan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai (Wulandari, 2011).

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan sampel dan pembanding pada salah satu ujung dari plat KLT, untuk membuat zona awal. Kemudian ujung sampel yang sudah ditotolkan tadi dicelupkan ke dalam fase gerak yang terdapat dalam bejana tertutup. Fase gerak yang digunakan dapat pelarut tunggal atau campuran dua sampai empat pelarut sekaligus (Wulandari, 2011). Jika fase gerak dan fase diam yang dipilih sudah benar, campuran komponen sampel akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui plat fase diam (Wulandari, 2011).

Fase diam yang digunakan pada metode KLT memiliki diameter partikel yang kecil yaitu antara 10-30 μm . Semakin sempit ukuran diameter pada fase diam KLT akan semakin baik efisiensi kinerja dari KLT itu sendiri begitu juga sebaliknya (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Fase diam yang sering digunakan dalam metode KLT adalah penjerap dan beberapa diantaranya yaitu silika dan selulosa. Beberapa penjerap yang digunakan dalam fase diam KLT dapat dilihat pada tabel 2. Sedangkan fase gerak yang dipakai dalam penelitian dapat diambil dari pustaka yang dijadikan sebagai acuan penelitian. Fase gerak yang baik akan menghasilkan nilai R_f kisaran 0,2-0,8 cm (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007).

Tabel 2. Penjerap fase diam KLT (Sumber : Kealey and Haines, 2002)

Penjerap	Mekanisme sorpsi	Penggunaan
Silika gel	Adsorpsi	Asam amino, hidrokarbon, vitamin, alkaloid
Silika yang dimodifikasi dengan hidrokarbon	Partisi termodifikasi	Senyawa-senyawa non polar
Serbuk selulosa	Partisi	Asam amino, nukleotida, karbohidrat
Alumina	Adsorpsi	Hidrokarbon, ion logam, pewarna makanan, alkaloid
Kieselguhr	Partisi	Gula, asam-asam lemak
Gel sephadex	Eksklusi	Polimer, protein, kompleks logam
B-siklodekstrin	Interaksi adsorpsi stereospesifik	Campuran enansiomer

Hasil dari KLT adalah bercak-bercak yang menandakan adanya suatu senyawa di spot tersebut. Perbedaan spot menandakan perbedaan senyawa yang terpisah. Hal ini dikarenakan perbedaan kekuatan ikatan suatu senyawa terhadap fase gerak ataupun fase diam. Perbedaan spot ini akan membuat perbedaan pada *retardation factor* (R_f). R_f dihitung berdasarkan perbandingan antara jarak tempuh senyawa dengan jarak tempuh fase gerak. Nilai R_f terletak antara 0-1. Nilai minimum R_f adalah 0 ketika suatu solut tertahan pada fase diam sejak titik awal, sedangkan nilai maksimum R_f adalah 1 ketika suatu solut ikut tertarik bersama fase gerak (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007).

b. Uji Titik Lebur

Salah satu ciri penting senyawa organik adalah jarak titik leburnya. Titik lebur dapat didefinisikan sebagai temperatur terjadinya transisi padatan menjadi cairan (Doyle & Mungall, 1980). Perbedaan titik lebur merupakan hal penting untuk identifikasi kemurnian suatu senyawa. Semua senyawa murni memiliki jarak titik lebur yang tajam, atau dapat diartikan suatu senyawa memiliki jarak temperatur yang sangat kecil untuk suatu perubahan senyawa dari padat ke cair. Jarak temperatur suatu senyawa dapat dikatakan murni adalah 1-2 °C. Penggunaan identifikasi titik lebur juga didasarkan pada fakta senyawa yang tidak murni menunjukkan hal penting, yaitu suhu lebur dengan jarak lebur yang lebar. Titik lebur merupakan identifikasi kualitatif yang dapat dijadikan tetapan fisika penting terutama pada hasil isolasi, kristalisasi, maupun sintesis (Branstatter, 1971 *cit* Lestari, 2003).

Titik lebur pada suatu rendemen padat merupakan suhu ketika suatu padatan mulai berubah menjadi cairan dengan tekanan tetap udara (1 atm). Jika suhu dinaikkan akan membuat suatu senyawa menyerap energi. Semakin tinggi suhu maka semakin banyak energi yang akan diserap sehingga akan menaikkan rotasi suatu molekul. Kenaikkan suhu yang terus meningkat akan mengakibatkan molekul berubah dari padatan ke cairan hingga rusak. Pada keadaan cair ini molekul masih berikatan satu sama lain, hanya saja kurang beraturan (Lestari, 2003).

B. Kerangka Konsep

Gamavuton-0 adalah senyawa antikanker yang merupakan salah satu turunan dari senyawa kurkumin. Sedikit modifikasi dilakukan dari struktur kurkumin menjadi struktur GVT-0. Gugus diketon pada kurkumin akan disederhanakan menjadi gugus monoketon. Modifikasi yang dilakukan diharapkan dapat menurunkan resiko dari toksisitasnya serta menaikkan aktivitas biologisnya jika dibandingkan dengan senyawa penuntunnya (Orbayinah *et al.*, 2003). Berdasarkan beberapa literature GVT-0 dapat disintesis dari *starting material* berupa vanilin dan aseton dengan beragam perbandingan. Penelitian yang dilakukan sebelumnya juga menyebutkan bahwa sintesis GVT-0 dapat dilakukan dengan *microwave* yang sudah diatur dengan daya 700 watt dengan perbandingan *starting material* 4,4 : 1. Katalis yang digunakan juga sudah ditetapkan pada 55 uL. Dari penelitian tersebut akan didapatkan rendemen GVT-0 yang maksimal. Setelah didapatkan rendemen tersebut akan dilakukan eksperimen pengaruh kromatotron terhadap pemisahan senyawa GVT-0 dengan *raw material* (vanillin) dalam rangka pemurnian hasil sintesis. Hal tersebut dilakukan agar dapat menemukan senyawa GVT-0 yang memenuhi syarat kemurnian. Penemuan senyawa GVT-0 murni ini yang belum bisa dilaksanakan pada penelitian sebelumnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keefektifan kromatotron dalam pemurnian senyawa GVT-0.

C. Keterangan Empirik

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas alat kromatotron atau kromatografi sentrifugal terhadap pemurnian senyawa GVT-0. Dalam hal ini diartikan ketika penelitian sebelumnya tahap yang sudah ditempuh dengan berbagai macam tahapan sintesis sudah didapatkan formulasi terbaik terkait sintesis. Penelitian ini diajukan untuk melanjutkan penelitian sebelumnya terkait GVT-0 yang masih dalam keadaan tercampur dengan *starting material* berupa vanilin jika digunakan pemisahan dengan maserasi. Dari kromatotron nanti dapat diketahui kemurnian senyawa GVT-0 setelah melewati alat kromatotron. Beberapa penelitian yang menjadi acuan penulisan ini yaitu :

1. Penelitian yang dilakukan oleh Hadi (2015), dilakukan perbandingan kadar katalis asam pada tahap sintesis GVT-0 dan setelah disintesis dilakukan pemurnian senyawa GVT-0 dengan menggunakan maserasi. Hasil yang didapatkan setelah dilihat menggunakan KLT adalah terdapat dua spot pada sampel yang menandakan GVT-0 belum murni sepenuhnya.
2. Penelitian yang dilakukan oleh Rifai (2017), dilakukan perbandingan waktu pemanasan pada tahap sintesis GVT-0 dan setelah disintesis juga dilakukan pemurnian menggunakan maserasi. Analisis juga dilakukan dengan metode KLT yang didapatkan hasil dua spot pada totalan sampel yang menandakan GVT-0 belum sepenuhnya murni.

Dari hal-hal di atas peneliti ingin mengembangkan lagi terkait kemurnian senyawa GVT-0 menggunakan alat kromatografi sentrifugal atau kromatotron agar dapat dijadikan syarat untuk tahap selanjutnya dalam proses penyiapan senyawa obat.